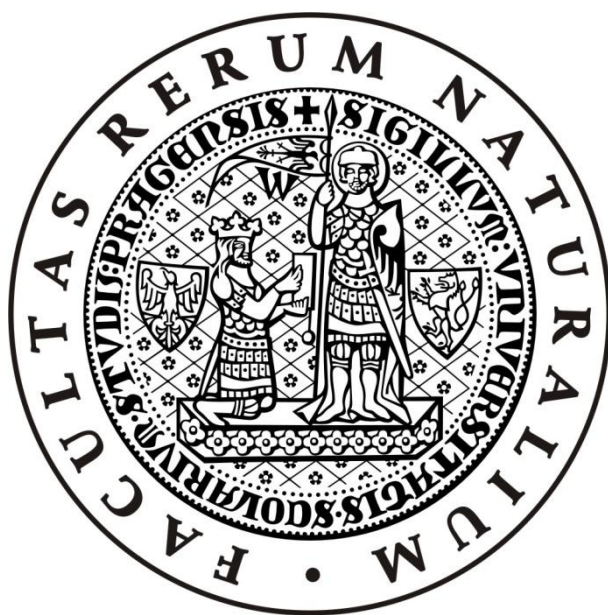


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



JANA ZEMÁNKOVÁ

Imunomodulační účinky makrolidových antibiotik

Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics

Bakalářská práce

Školitel: prof. MUDr. Ilja Stříž, CSc.

Praha, 2012

Poděkování:

Děkuji svému školiteli prof. MUDr. Iljovi Střížovi, CSc. za odborné konzultace během psaní mé bakalářské práce a vstřícnost, které si vážím. Dále bych chtěla poděkovat MUDr. Lukášovi Wagenknechtovi za cenné rady a připomínky, které přispěly k vylepšení této práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14.5. 2012

Podpis

OBSAH

Abstrakt	2
Abstract	3
Seznam použitých zkratek	4
1 ÚVOD	5
2 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	6
3 MECHANISMY ÚČINKU	9
3.1 Signalizační dráhy	9
3.2 Interakce hostitel - patogen	11
3.2.1 Biofilm	11
3.2.2 Pohyblivost a adheze	11
3.2.3 Quorum-sensing	12
3.2.4 Virulentní faktory	12
3.3 Epiteliální buňky dýchacích cest	12
3.3.1 Vlastnosti epitelu	12
3.3.2 Sekrece hlenu	13
3.4 Imunitní buňky a zánětlivé mediátory	14
3.4.1 Produkce cytokinů	14
3.4.2 Neutrofily	14
3.4.3 Alveolární makrofágy	17
3.4.4 Monocyty	17
3.4.5 Adaptivní imunita	18
3.4.6 Eosinofily	18
4 KLINICKÉ VYUŽITÍ	20
4.1 Difúzní panbronchiolitida	20
4.2 Cystická fibróza	20
4.3 Astma	21
4.4 CHOPN	22
4.5 Bronchiolitis obliterans	23
5 RIZIKA SPOJENÁ S LÉČBOU	24
5.1 Nežádoucí účinky	24
5.2 Rezistence	24
6 ZÁVĚR	25
Seznam použité literatury	26

Abstrakt

Makrolidová antibiotika jsou známa nejen svými antibakteriálními účinky, ale také pro své nově objevené protizánětlivé účinky, kdy jsou schopné výrazně potlačit destruktivní a v mnohých případech život ohrožující zánět, což je žádoucí zejména u chronických zánětlivých nemocí. Podstatou jejich účinku je modulace různých komponent imunitního systému, a proto tyto vlastnosti nazýváme „imunomodulační“. Pod tento pojem se dají též zařadit účinky na epitelální buňky, jejich sekreторickou aktivitu, a také na patogeny, které u chronických zánětlivých respiračních nemocí mohou osidlovat dýchací cesty a přispívat k patogenezi i samotnému vzniku onemocnění. V této práci jsou shrnuty nejdůležitější doposud objevené mechanismy, jimiž makrolidová antibiotika tyto imunomodulační účinky realizují a také jsou uvedeny příklady nemocí, u nichž má léčba největší klinický význam. Makrolidová antibiotika s těmito jedinečnými vlastnostmi jsou navíc dobře tolerována a vážné vedlejší účinky se objevují jen vzácně. Největším rizikem je vznik rezistence, a to je hlavní důvod, proč nemůže být tato léčba vždy plně doporučena. Záleží tedy na každém lékaři, aby zvážil rizika a prospěšnost léčby u daného konkrétního pacienta.

Klíčová slova: makrolidy, imunomodulace, zánět, cytokiny, epitelální buňky

Abstract

Macrolide antibiotics are well known not only for their antibacterial properties, but also for their recently discovered anti-inflammatory properties. They are able to significantly suppress destructive and in many cases life-threatening inflammation, an effect which is desired especially in chronic inflammatory diseases. The principle which their act is the modulation of the various components of the immune system. These effects are called „immunomodulatory“ and can also include the effect on epithelial cells and their secretory activity, as well as the effect on pathogens which can colonize the airways and contribute to pathogenesis and the emergence of the chronic inflammatory respiratory diseases. This thesis summarizes the most important known mechanisms, by which macrolide antibiotics exert these immunomodulatory effects, and also notes examples of diseases whose treatment is the most clinically significant. Macrolide antibiotics possessing these unique anti-inflammatory properties are well tolerated and severe side-effects are rare. However, the most serious risk is the emergence of resistance and that is the main reason why this treatment can not be recommended without reservation. It is up to each doctor to consider the risks and benefits of the treatment in each individual patient.

Keywords: macrolides, immunomodulation, inflammation, cytokines, epithelial cells

Seznam použitých zkratk

AP	activator protein
cAMP	cyclic adenosin monophosphate
CF	cystická fibróza
CFTR	cystic fibrosis transmembrane regulator
DPB	difuzní panbronchiolitida
ERK	extracellular signal-regulated kinase
FEV ₁	forced exhaled volume in the first second of exhalation
FVC	forced vital capacity
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GMD	guanosine diphospho-d-mannose dehydrogenase
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN	interferon
IL	interleukin
LPS	lipopolysacharid
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MIC	minimal inhibitory concentrations
MMP	matrix metalloproteinase
mRNA	ribonucleic acid
MUC5AC	mucin-5AC
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NHBE	normal human bronchial epithelial
NO	nitric oxide
QTc	QT counted
rRNA	ribonucleic acid
Th	T-helper cell
TNF	tumor necrosis factor

1 ÚVOD

Makrolidová antibiotika (dále jen „makrolidy“) jsou pro své antimikrobiální účinky klinicky využívána již mnoho desetiletí. Jako první byl do klinické praxe uveden erythromycin, který byl v roce 1952 izolován z kultury bakterie *Streptomyces erythraea*. Poté se výzkum zaměřil na vyvíjení nových semi-syntetických derivátů erythromycinu pro zlepšení jejich chemických, biologických a farmakokinetických vlastností (Hardy et al., 1988; Mazzei et al., 1993). Například novější antibiotika azithromycin a clarithromycin jsou chemicky stabilnější, lépe tolerované, mají širší antimikrobiální spektrum a dovolují kratší dobu podávání (Alvarez-Elcoro and Enzler, 1999).

Makrolidy mají antimikrobiální účinky zejména proti Gram-pozitivním kokům a atypickým patogenům. Nicméně, během posledních let mnoho nashromážděných důkazů odhalilo, že 14- a 15- členné makrolidy, jako je erythromycin, clarithromycin, roxithromycin a azithromycin mají mimo antimikrobiálního účinku také další na něm nezávislý, a to sice protizánětlivý neboli imunomodulační účinek. Imunomodulačním účinkem je myšleno potlačení destruktivní zánětlivé odpovědi bez snížení schopnosti obrany imunitního systému proti infekcím (Kano and Rubin, 2010). Jeden z prvních důkazů, který tuto hypotézu vynesl do popředí zájmu, byla úspěšná léčba pacientů trpících difúzní panbronchiolitidou (DPB), chronickou zánětlivou nemocí dýchacích cest spojenou s vysokou úmrtností vyskytující se výhradně ve Východní Asii. Po nízkodávkové léčbě erythromycinem došlo k rapidnímu snížení úmrtnosti pacientů, což se přisuzuje právě schopnosti erythromycinu snížit destruktivní chronický zánět, který tuto nemoc provází (Kudoh et al., 1998). Po této zkušenosti se pozornost zaměřila na rozšíření makrolidové léčby na další chronická zánětlivá onemocnění dýchacích cest, jako je cystická fibróza (CF), chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN), astma, sinusitida a bronchiektázie. Dnes jsou u těchto nemocí známy jasné důkazy o prospěšnosti nízkodávkové a dlouhodobé léčby pomocí makrolidů, ovšem existují také důkazy, které tyto účinky nepotvrzují či dokonce vyvracejí. Nicméně tato léčba nachází mezi vědci a lékaři řadu zastánců a stále pokračují snahy o rozšíření počtu studií a zavedení této léčby do běžné klinické praxe, jak se tomu již děje u léčby DPB v Japonsku.

Obecně lze shrnout, že makrolidová terapie založená na jejich imunomodulačních účincích je efektivní, pokud je podávání léku dlouhodobé (od několika týdnů až po několik měsíců) a v nízkých dávkách, takových, kdy je koncentrace léku v séru nižší než minimální inhibiční koncentrace (MIC) a tato léčba je efektivní pouze s 14- a 15- člennými makrolidy.

Mnoho výzkumů se od objevení prospěšného účinku podávání makrolidů u DPB až po současnost zabývá vysvětlením mechanismů, kterými jsou makrolidy schopné modulovat imunitní systém a snižovat tak destruktivní zánětlivou odpověď na normální úroveň. Tato práce má za cíl shrnout možné mechanismy účinků a nastínit využití imunomodulačních účinků makrolidů v klinické praxi, ale i možná rizika s nimi spojená.

2 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Makrolidová antibiotika jsou charakterizována makrocyclickým laktonovým kruhem skládající se z 12-16 uhlíkových atomů, ke kterým je připojený glykosidovou vazbou alespoň jeden aminocukr. Nejběžněji klinicky využívané jsou makrolidy s 14, 15 a novější makrolidy se 16 atomy, které jsou shrnuty v tabulce 1 (Friedlander and Albert, 2010). Všechny tyto sloučeniny mají podobný mechanismus účinku, antimikrobiální spektrum a schopnost se koncentrovat v buňkách hostitele (Labro, 2004).

Struktura	Běžné makrolidy	Novější makrolidy
14-členný makrolid	<i>Erythromycin, Clarithromycin, Roxithromycin, Troleandomycin</i>	
15-členný makrolid	<i>Azithromycin</i>	
16-členný makrolid		<i>Spiramycin, Josamycin, Midecamycin</i>

Tabulka 1 (převzato z Friedlander and Albert, 2010).

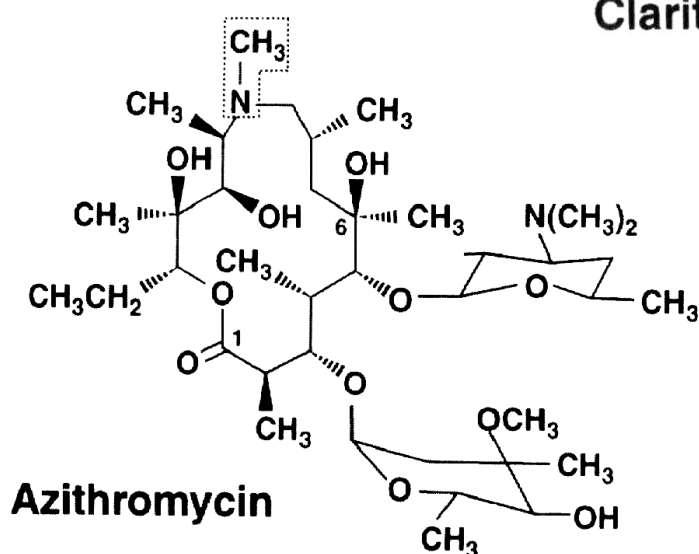
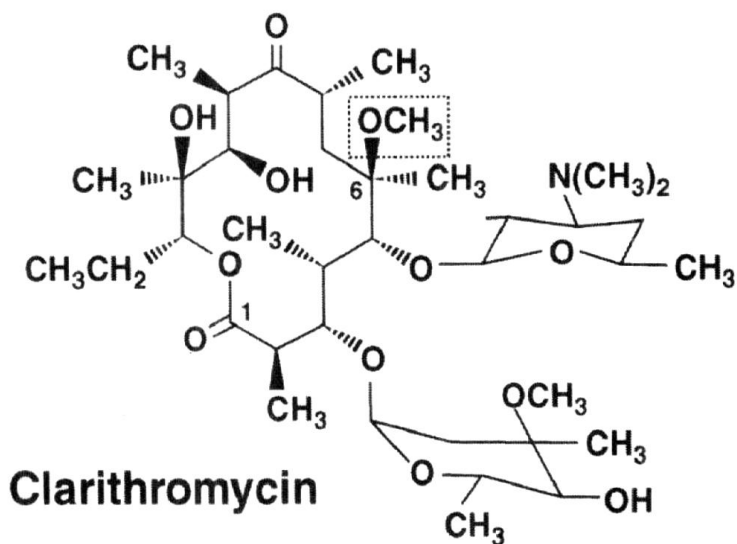
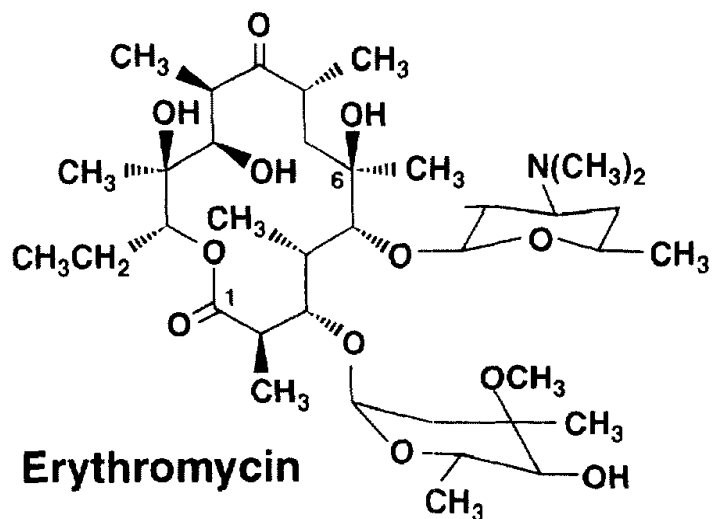
Makrolidy působí zejména bakteriostaticky, při vyšších koncentracích mohou působit i baktericidně. Růst bakterií inhibují narušením syntézy proteinů vazbou na 23S rRNA v 50s ribozomální podjednotce, a také interakcí se specifickými ribozomálními proteiny nacházející se ve stejné lokalitě (Čulíć et al., 2001). Jejich antibakteriální spektrum je široké a zahrnuje i atypické patogeny. Působí jak na Gram-pozitivní, tak na Gram-negativní bakterie. Obecně se používají proti na ně citlivým organismům způsobujícím respirační, urogenitální, gastrointestinální a kožní infekce, nejčastěji se však využívají na léčbu infekcí horních cest dýchacích. Příkladem na makrolidy citlivých organismů jsou *Streptococci*, *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila*, *Legionella*, *Actinomycetes* a další (Davis, 2011). Makrolidy se podávají orálně a jednou z výjimečných vlastností je výborná penetrace do tkání, což má za následek několikrát vyšší koncentraci antibiotik ve tkáních, například respiračních, než v séru. Mají tedy schopnost se akumulovat v postižených tkáních a také snadno prostupují do obraných imunitních buněk hostitele, zejména do makrofágů a neutrofilů.

Makrolidy jsou obecně považovány za dobře tolerovaná antibiotika. K vedlejším účinkům léčby patří zejména gastrointestinální potíže zahrnující průjem, zvracení, nauzea a bolesti břicha, dále sem patří ototoxicita a prodlužování QT intervalu. Tyto nežádoucí účinky jsou častější u erythromycinu, méně častá u novějších makrolidů (Jain and Danziger, 2004).

Makrolidová antibiotika jsou první volbou při léčbě některých respiračních infekcí. Což s sebou také přináší riziko zvyšující se rezistence respiračních patogenů na makrolidy spojené s jejich vysokým užíváním. Hlavními mechanismy rezistence jsou za prvé, změna ve vazebném místě na ribozomu pro makrolid a za druhé, aktivní vypumpování neboli eflux antibiotika z buňky (Davis, 2011). Společně s rostoucí rezistencí patogenů dochází také ke zvyšující se rezistenci komenzálních bakterií, což může být problém u jedinců se sníženou imunitou a také může docházet k přenosu rezistenčních faktorů na patogenní bakterie (Perez-Trallero et al., 2001).

Struktura běžně používaných makrolidů, erythromycinu, clarithromycinu, azithromycinu:

(Převzato z Alvarez-Elcoro andENZler, 1999).



3 MECHANISMY ÚČINKU

Makrolidy své imunomodulační účinky vykonávají přes řadu mechanismů působících na úrovni interakcí mezi hostitelem a patogenem, epiteliálních buněk, sekrece hlenu, imunitních buněk a produkce cytokinů. Převážná část těchto mechanismů je řízena přes intracelulární signalizační dráhy.

3.1 Signalizační dráhy

Převážná část publikovaných studií naznačuje, že primárním mechanismem imunomodulačních účinků makrolidů v savcích buňkách je ovlivnění intracelulární signalizační MAPK dráhy, a to především přes kinázu ERK 1/2 a následné ovlivnění transkripčního faktoru NF- κ B. Tato intracelulární dráha je zapojena v mnoha buněčných dějích, jako je například produkce zánětlivých cytokinů, buněčná proliferace či produkce mucinů. Tento prokázaný vliv makrolidů na MAPK/ NF- κ B signalizaci vysvětluje řadu jejich imunomodulačních účinků (Kanoh and Rubin, 2010).

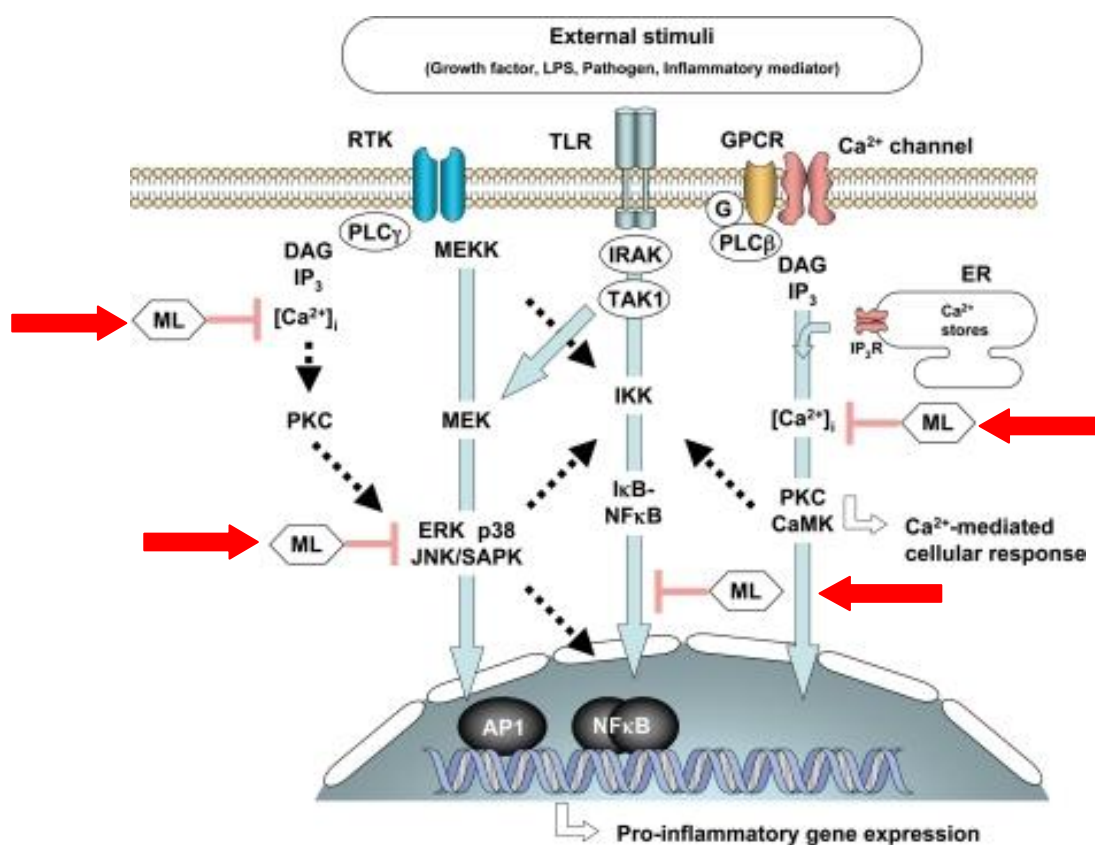
Vliv makrolidů na buněčnou proliferaci zkoumal Shinkai et al. Použitím clarithromycinu došlo k potlačení vstupu z G1 fáze do S fáze u normálních lidských epiteliálních (NHBE) buněk, a tím k zamezení proliferace. K tomuto ději pravděpodobně dochází právě díky inhibici ERK 1/2 (Shinkai et al., 2006b).

Roxithromycin má schopnost snižovat produkci mucinů v bronchiálních epiteliálních buňkách díky zamezení translokace NF- κ B do jádra, a tím zamezení exprese genu *MUC5AC* (Ou et al., 2008). MUC5AC patří mezi hlavní muciny lidských dýchacích cest.

Shinkai et al. ve svých studiích na kultuře NHBE buněk prokázal, že clarithromycin trvale snižuje produkci prozánětlivého cytokinu IL-8 přes inhibici ERK 1/2, a že působení makrolidů na ERK 1/2 není lineární, ale je vícefázové. Ihned po podání clarithromycinu došlo ke snížení sekrece IL-8, poté následovalo značné zvýšení a následně došlo k trvalé normalizaci sekrece IL-8, a to v závislosti na aktivaci či inhibici ERK. Při inhibici ERK dochází ke snížení sekrece IL-8 a naopak. Tento děj ukazuje na imunoregulační schopnosti makrolidů, kdy po posílení zánětlivé imunitní odpovědi dojde k jejímu utlumení na normální fyziologickou úroveň

(Shinkai et al., 2006a; Shinkai et al., 2007). Což naznačuje tomu, že makrolidy mají schopnost omezit patologický zánět bez omezení schopnosti organismu boje proti infekci.

Pravděpodobné působení makrolidů na intracelulární signalizační dráhy zapojené v zánětlivé imunitní odpovědi se dá shrnout do tří úrovní (viz. Obrázek 1). Inhibice ERK 1/2, zamezení translokace transkripčního faktoru NF- κ B a inhibice vzrůstu intracelulárního vápníku (Kanoh and Rubin, 2010), který je podle výsledků výzkumu na CF buňkách bronchiálního epitelu klíčovým regulátorem NF- κ B aktivace (Tabary et al., 2006).



Obrázek 1 (Převzato z Kanoh and Rubin, 2010).

3.2 Interakce hostitel - patogen

Gram-negativní bakterie, jako je *Pseudomonas aeruginosa* mají schopnost v hostiteli utvářet strukturu zvanou biofilm. Po infekci dochází k adhezi na hostitelské buňky pomocí adhezivních molekul a k produkci řady škodlivých toxinů a enzymů. Poté, co se bakterie naváží na povrch, např. epitel, mění svojí pohyblivost, ztrácejí bičík a pohybují na pevném povrchu pohybem označovaným jako „cukavý“, dále produkují proteiny quorum-sensing, sloužící k vzájemné bakteriální komunikaci a pomocí guanosin difosfo-d-manóza dehydrogenázy (GMD) produkují polysacharid alginin. Bakterie uvnitř takového biofilmu je chráněna před antibiotiky. Proto antibiotika, která jsou jinak na určitý druh planktonní formy bakterie efektivní, selhávají při účinku na bakterie formované do biofilmu, což je důvod proč mnohé Gram-negativní bakterie odolávají působení makrolidů (Shinkai et al., 2008). Výsledky mnoha studií však dokazují inhibiční účinek nízkých dávek makrolidů na strukturu a tvorbu biofilmu, a to především u bakterie *P. aeruginosa*.

3.2.1 Biofilm

Hlavní charakteristikou biofilmu je vrstva membránové struktury pokrývající bakteriální kolonie a tvorba polysacharidů, jako je alginin a hexóza. Podání clarithromycinu k biofilmu *P. aeruginosa* v nízké koncentraci způsobilo porušení membránové vrstvy a snížení koncentrace polysacharidů. Tímto se zlepšila přístupnost bakterií antibiotikům (Yasuda et al., 1993). Stejně tak azithromycin podán v koncentraci nedosahující MIC snížil produkci algininu v biofilmu tvořeném *P. aeruginosa* (Ichimiya et al., 1996). Také erythromycin vykazuje schopnost narušit utváření biofilmu, a to inhibicí výše zmíněné GMD produkující alginin (Mitsuya et al., 2000). Makrolidy tedy mají schopnost měnit strukturu biofilmu, což může zefektivnit léčbu u pacientů trpících chronickými infekcemi bakterií *P. aeruginosa*, jako jsou například pacienti s CF a DPB.

3.2.2 Pohyblivost a adheze

Makrolidy způsobují ztrátu pohyblivosti především snížením exprese proteinu flagelinu, který tvoří bakteriální bičík, tuto schopnost při podání k *P. aeruginosa* nejvíce vykazoval

azithromycin (Kawamura-Sato et al., 2000). Makrolidy mají také schopnost inhibovat výše zmíněnou cukavou pohyblivost (Wozniak and Keyser, 2004).

Existují důkazy o schopnosti makrolidů snížit adhezi bakterií *P. aeruginosa* na buňky dýchacího epitelu. Jedním z nich je objevená schopnost erythromycinu snižovat adhezi *P. aeruginosa in vivo* na tracheální sliznici myšího modelu (Yamasaki et al., 1997) a *in vitro* na lidský kolagen typu IV, který tvoří bazální membránu (Tsang et al., 2003).

3.2.3 Quorum-sensing

Quorum-sensing je způsob, kterým bakterie komunikují mezi sebou, jedná se o signalizační mechanismus, kdy bakteriemi produkováné signální molekuly zvané autoinduktory regulují expresi genů, které zajišťují různé fyziologické děje bakterií, jako je například virulence, pohyblivost či formace biofilmu. Existují důkazy, že makrolidy mají schopnost inhibovat quorum-sensing (Miller and Bassler, 2001; Tateda et al., 2007). Například ve studii Skindersoe et al. azithromycin podávaný v koncentraci nižší, než je inhibiční, potlačil expresi virulentních genů regulovaných pomocí quorum-sensing (Skindersoe et al., 2008).

3.2.4 Virulentní faktory

P. aeruginosa po adhezi na hostitelskou buňku začne produkovat řadu škodlivých toxinů a enzymů, které jsou pozitivně regulovány transkripčními faktory a autoinduktory (např. N-acyl-L-homoserin lakton). Tyto toxiny, enzymy a autoinduktory patří pod virulentní faktory *P. aeruginosa*. Erythromycin v dávkách nedosahujících MIC má schopnost potlačovat produkci těchto virulentních faktorů (Hirakata et al., 1992; Sofer et al., 1999).

3.3 Epiteliální buňky dýchacích cest

3.3.1 Vlastnosti epitelu

Již bylo zmíněno, že makrolidy mají schopnost inhibovat produkci prozánětlivých cytokinů produkovaných NHBE buňkami. Kromě toho, makrolidy také mohou pozitivně

ovlivňovat vlastnosti lidského dýchacího epitelu *in vitro* a zvyšovat tak jeho schopnost obrany proti vnějším vlivům. Stabilizují membránu buněk epitelu, chrání ho před destrukcí prozánětlivými mediátory a zlepšují pohyblivost řasinek (Feldman et al., 1997). Jedna z vlastností epitelu je také regulace průtoku iontů přes epitel pomocí těsných spojů, a tím regulace elektrolytového obsahu povrchové tekutiny dýchacích cest (Tang and Goodenough, 2003). Tento obsah bývá abnormální například u pacientů s cystickou fibrózou. Prokázalo se, že azithromycin zvyšuje transepiteliální elektrickou bariéru lidského dýchacího epitelu *in vitro* tím, že podporuje vytváření a lokalizaci proteinů těsných spojů. (Asgrimsson et al., 2006).

Ishizawa et al. se domnívá, že k zvýšení baktericidní aktivity povrchové tekutiny dýchacích cest může docházet díky zvýšení produkce antimikrobiálních peptidů lidských β -defensinů. V jeho studii erythromycin přidán ke kultuře lidských buněk tracheálního epitelu zvýšil produkci mRNA a proteinů lidského β -defensinu-1 a lidského β -defensinu-2 (Ishizawa et al., 2005).

Intracelulární adhezivní molekula (ICAM)-1 je exprimována na povrchu různých typů buněk, mezi nimi jsou i epiteliální buňky dýchacích cest. Adhezivní molekuly zvané CD11/CD18 (β_2) integriny exprimované na neutrofilech se váží na ICAM-1. Adheze neutrofilů na epiteliální buňky dýchacích cest prostřednictvím ICAM-1 je důležitý mechanismus v zánětlivých onemocněních dýchacích cest (Tosi et al., 1992). Prokázalo se, že roxithromycin má inhibiční vliv na expresi molekuly ICAM-1 na lidských bronchiálních epiteliálních buňkách *in vitro* (Kawasaki et al., 1998). Molekula ICAM-1 je také receptorem pro lidské rhinoviry infikující dýchací epitel a potlačením její exprese pomocí makrolidů se zamezí adherenci a vstupu viru do endosomu (Suzuki et al., 2002).

3.3.2 Sekrece hlenu

Zvýšená sekrece hlenu doprovází řadu chronických zánětlivých onemocnění dýchacích cest a může způsobit komplikace, jako jsou obstrukce dýchacích cest, zhoršení mukociliárního transportu a opakující se infekce. Makrolidy mají schopnost inhibovat nadprodukcii hlenu bez toho, aby ovlivnily normální fyziologickou sekreci (Kano and Rubin, 2010).

Clarithromycin má schopnost snižovat produkci hlenu a zlepšovat mukociliární transportní vlastnosti *in vivo* (Rubin et al. 1997). To, že inhibice sekrece hlenu je spojena s inhibicí exprese MUC5AC mRNA prokázal Shimizu et al. v lidských buňkách nosního epitelu a v lidské mukoepidermální nádorové buněčné linii *in vitro* použitím clarithromycinu a erythromycinu (Shimizu et al., 2003).

Dosud neznámý mechanismus byl částečně objasněn použitím myšího modelu pro DPB. Clarithromycin výrazně redukoval expresi MUC5AC na úrovni mRNA i proteinu, pravděpodobně prostřednictvím inhibice ERK 1/2 (Kaneko et al., 2003). Také roxithromycin redukoval expresi genu *MUC5AC* tím, že zamezil translokaci NF- κ B do jádra a snížil tak produkci mucinů v bronchiálních epitelálních buňkách (Ou et al. 2008).

3.4 Imunitní buňky a zánětlivé mediátory

3.4.1 Produkce cytokinů

Cytokiny a chemokiny jsou hlavními regulátory zánětlivé odpovědi. Makrolidy obecně mají schopnost inhibovat syntézu a sekreci zánětlivých cytokinů, mezi které řadíme například IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ či GM-CSF. Inhibice těchto cytokinů by mohla vést k zabránění vstupu fagocytujících buněk do místa zánětu, a tím k zmírnění nežádoucí zánětlivé odpovědi (Čulić et al., 2001). Tyto procesy jsou pravděpodobně spojeny s inhibicí ERK1/2 či transkripčních faktorů, jako je NF- κ B nebo AP-1 (Desaki et al., 2000; Shinkai et al., 2006a). Dále se budeme věnovat účinkům makrolidů na jednotlivé typy buněk přirozené a adaptivní imunity. Hlavními typy buněk přirozené imunity zapojené v zánětlivé odpovědi jsou neutrofily a makrofágy, proto se většina studií zaměřuje právě na ně, ostatní typy, jako jsou monocyty či eosinofily jsou zmíněny jen okrajově.

3.4.2 Neutrofily

Neutrofily hrají zásadní roli v zánětlivé odpovědi. V reakci na chemoatraktanty migrují do místa zánětu a adherují na endoteliální a bronchiální epitelální buňky. Bakterie likvidují fagocytózou, lysozomálními enzymy, produkcí superoxidů a produkcí zánětlivých cytokinů (Tamaoki, 2004). Byly prokázány účinky makrolidů na jednotlivé děje neutrofilů během

zánětlivé odpovědi, jako je chemotaxe, adheze, degranulace, produkce cytokinů, kyslíkových radikálů a také na jejich apoptózu.

Chemokin IL-8 (CXCL8) je hlavní chemoatraktant neutrofilů do místa zánětu. Neutrofilů jsou jak jeho cílem, tak jeho zdrojem (Tamaoki, 2004). Jiným produktem neutrofilů, který přispívá k zánětlivé odpovědi, je neutrofilní elastáza, která může přímo stimulovat produkci IL-8 a sekreci hlenu epiteliálními buňkami (Sommerhoff et al., 1990; Nakamura et al., 1992). Studie naznačují, že klinický efekt nízkodávkového dlouhodobého podávání makrolidů u pacientů s chronickým onemocněním dýchacích cest může být realizován právě přes inhibici IL-8 produkovaného aktivovanými neutrofilů (Tsuchihashi et al., 2002). Po léčbě erythromycinem takto postižených pacientů došlo kromě snížení produkce IL-8 také ke snížení množství neutrofilní elastázy v bronchoalveolární laváži (Oishi et al., 1994). Erythromycin snižuje množství neutrofilní elastázy tím, že působí jako inhibitor neutrofilní elastázy, zatímco flurythromycin (14-členný 8-fluoromakrolid) působí jako její inaktivátor (Gorrini et al., 2001). Schopnost redukovat množství elastázy byla prokázána i u clarithromycinu, který kromě elastázy snížil také množství metaloproteinázy (MMP)-9 u pacientů trpících astmatem (Simpson et al., 2008). MMP-9 je produkována různými typy buněk, jako jsou například neutrofilů a je zapojena v transmigraci polymorfonukleárních leukocytů do místa zánětu v odpovědi na zánětlivé stimuly (Lechapt-Zalcman et al., 2001).

Makrolidy mohou mít vliv také na chemotaxi neutrofilů. Výsledky studií se ovšem liší. Podle jedné studie byla chemotaktická aktivita neutrofilů zvýšena podáním erythromycinu *in vitro* (Anderson, 1989), podle jiné studie snížena podáním azithromycinu v myším modelu chronické infekce *P. aeruginosa in vivo* (Tsai et al., 2004). Snížení chemotaktické aktivity neutrofilů nejspíše dochází přes redukci aktivace ERK 1/2 signální dráhy (Tsai et al., 2004). Inhibice chemotaktické aktivity neutrofilů a jejich chemoatraktantů přispívá ke snížení neutrofilové infiltrace dýchacích cest. Snížení neutrofilie doprovázené snížením množství IL-8 v dýchacích cestách bylo prokázáno u pacientů s bronchiolitis obliterans léčených azithromycinem (Verleden et al., 2006).

Po aktivaci neutrofilů dochází k degranulaci různých cytotoxických enzymů. Ukázalo se, že makrolidy stimulují degranulaci u lidských neutrofilů *in vitro* (Abdelghaffar et al., 1996).

Tímto způsobem makrolidy zvyšují svojí antibakteriální aktivitu zvýšením obranyschopnosti hostitelského organismu proti mikroorganismům (Čulić et al., 2001).

Jak již bylo zmíněno, neutrofily na svém povrchu exprimují CD11/CD18 (β_2) integriny, jejichž prostřednictvím adherují na endotel a migrují přes epitel do místa zánětu, zde fagocytují a degranulují svůj obsah (Albelda et al., 1994). Jeden z účinků erythromycinu na lipopolysacharidem aktivované neutrofily bylo snížení exprese adhezivní molekuly Mac-1 (CD11b/CD18) patřící pod β_2 integriny *in vitro* (Lin et al., 2000). V jiné studii erythromycin snižoval krom exprese Mac-1 také expresi L-selektinu na povrchu neutrofilů, a tím jejich migraci do středního ucha v krysím modelu zánětu středního ucha (Enomoto et al., 1998).

Oxidační vzplanutí je děj, při kterém vznikají reaktivní kyslíkové intermediáty produkované NADPH oxidázou. Fagocytující buňky, jako jsou neutrofily, jsou plně vybavené NADPH oxidázami. Tyto intermediáty mají destrukční efekt nejen na bakterie, ale pokud jsou produkovány ve velkém množství po delší dobu, tak i na okolní tkáň (Čulić et al., 2001). Výsledky studií účinků makrolidů na oxidační vzplanutí se liší. Prvotní studie ukázaly, že makrolidy mají schopnost omezit produkci reaktivních kyslíkových intermediátů (Labro et al., 1989). V jiné, pozdější studii se efekt makrolidů na oxidační vzplanutí nepotvrdil (Koch et al., 2000). A podle studie prováděné na zdravých lidských jedincích došlo po podání azithromycinu nejdříve k akutnímu zvýšení oxidativního vzplanutí a až posléze došlo k jejímu trvalému snížení a zároveň ke zvýšení apoptózy neutrofilů (Čulić et al., 2002). Zvýšení apoptózy (programované buněčné smrti) neutrofilů po podání makrolidů bylo prokázáno i v mnoha jiných případech. Vráťme se ke studii Koch et al., kde se nepotvrdil účinek na oxidační vzplanutí a stejně tak na produkci IL-8 po podání azithromycinu *in vitro*, avšak vzrostlo množství apoptotických neutrofilů, což tedy znamená, že vzrůst apoptózy nemusí být spojen s těmito ději. Ovšem v přítomnosti bakterie *Streptococcus pneumoniae* byl tento proapoptický účinek inhibován (Koch et al., 2000). Erythromycin také zvyšuje hladinu cAMP v neutrofilech *in vitro*, a tím urychluje jejich apoptózu (Aoshiba et al., 1995).

3.4.3 Alveolární makrofágy

Makrofágy hrají hlavní úlohu ve fagocytóze exogeních částic a buněk, které podlehly apoptóze. Makrolidy mohou zvýšit úroveň fagocytózy apoptotických neutrofilů alveolárními makrofágy *in vitro* (Yamaryo et al., 2003). Například azithromycin zvýšil fagocytózu bronchiálních epiteliálních buněk a neutrofilů alveolárními makrofágy v bronchoalveolární laváži získané od dobrovolníků s CHOPN *in vitro* (Hodge et al., 2006).

Výsledky dřívějšího výzkumu prováděného na myší buněčné linii makrofágů naznačují, že makrolidy zvyšují kromě fagocytózy i jiné funkce makrofágů, jako je chemotaxe, cytotoxická aktivita a také výrazně stimulují růst makrofágů (Xu et al., 1996).

Makrolidy mají schopnost měnit fenotyp makrofágů z klasicky aktivovaných (M1) na alternativně aktivované (M2). M1 jsou aktivované IFN- γ /LPS a vedou k zánětlivé odpovědi. M2 jsou aktivované IL-4/IL-13 a mají imunomodulační a reparační funkci. Azithromycin přidáný k buněčné kultuře myších makrofágů značně redukoval produkci prozánětlivých cytokinů, zvýšil produkci protizánětlivých, snížil expresi receptorů typických pro M1 a také expresi proteinů indukibilní NO-syntetázy ve prospěch M2 alternativně aktivovaných makrofágů *in vitro* (Murphy et al., 2008). Tato schopnost azithromycinu byla také prokázána u alveolárních makrofágů myšího modelu cystické fibrózy (Meyer et al., 2009).

3.4.4 Monocyty

Monocyty se ve tkáních diferencují v makrofágy, a právě vliv makrolidů na tuto diferenciaci byl předmětem zájmu několika studií, které prokázaly, že makrolidy podporují diferenciaci a zvyšují tak počet aktivovaných makrofágů *in vitro* (Sunazuka et al., 2003).

Jeden z hlavních producentů prozánětlivého cytokinu IL-8 jsou právě monocyty. Po aktivaci, například lipopolysacharidem, produkují IL-8 a atrahují tak zánětlivé buňky do místa zánětu. Množství IL-8 produkovaného lidskými periferními monocyty a leukemickou buněčnou linií monocytů bylo sníženo podáním clarithromycinu *in vitro* (Kikuchi et al., 2002).

3.4.5 Adaptivní imunita

Makrolidy mají prokázaný účinek také na buňky adaptivní imunity, a to především na T-buněčnou regulaci a antigenní prezentaci. Hlavními antigen-prezentujícími buňkami jsou dendritické buňky (DC). Makrolidy své protizánětlivé účinky mohou vykonávat právě prostřednictvím modulování funkcí DC. Azithromycin a clarithromycin výrazně zvyšují expresi kostimulační molekuly CD80 a také ovlivňují produkci cytokinů dendritickými buňkami, azithromycin značně zvyšuje produkci protizánětlivého IL-10 a clarithromycin snižuje produkci prozánětlivého IL-6 a IL-2 (Sugiyama et al., 2007).

Špatná regulace apoptózy může být spojena s chronickými nemocemi dýchacích cest. Existují důkazy, že léčba makrolidy podporuje apoptózu aktivovaných lymfocytů *in vitro* a potlačují tak infiltraci dýchacích cest (Kadota et al., 2005). Tento děj je zprostředkován zvýšením exprese FasL (Fas-ligandu), regulátoru apoptózy, a tím k zvýšení interakce Fas-FasL a aktivaci kaspáz (Jun et al., 2003).

Zdá se, že makrolidy mají vliv na produkci zánětlivých cytokinů T-lymfocyty. Pomocné T-lymfocyty (Th) se při imunitní odpovědi diferencují na Th1, kde převažuje sekrece IFN- γ a Th2, kde převažuje sekrece IL-4. Při podání roxithromycinu k lidským T-lymfocytům *in vitro* se ukázalo, že roxithromycin inhibuje produkci IL-4 a IL-5 a nemá vliv na IFN- γ a IL-2, tedy potlačuje cytokinovou sekreci Th2 lymfocyty ve prospěch Th1 (Asano et al., 2001).

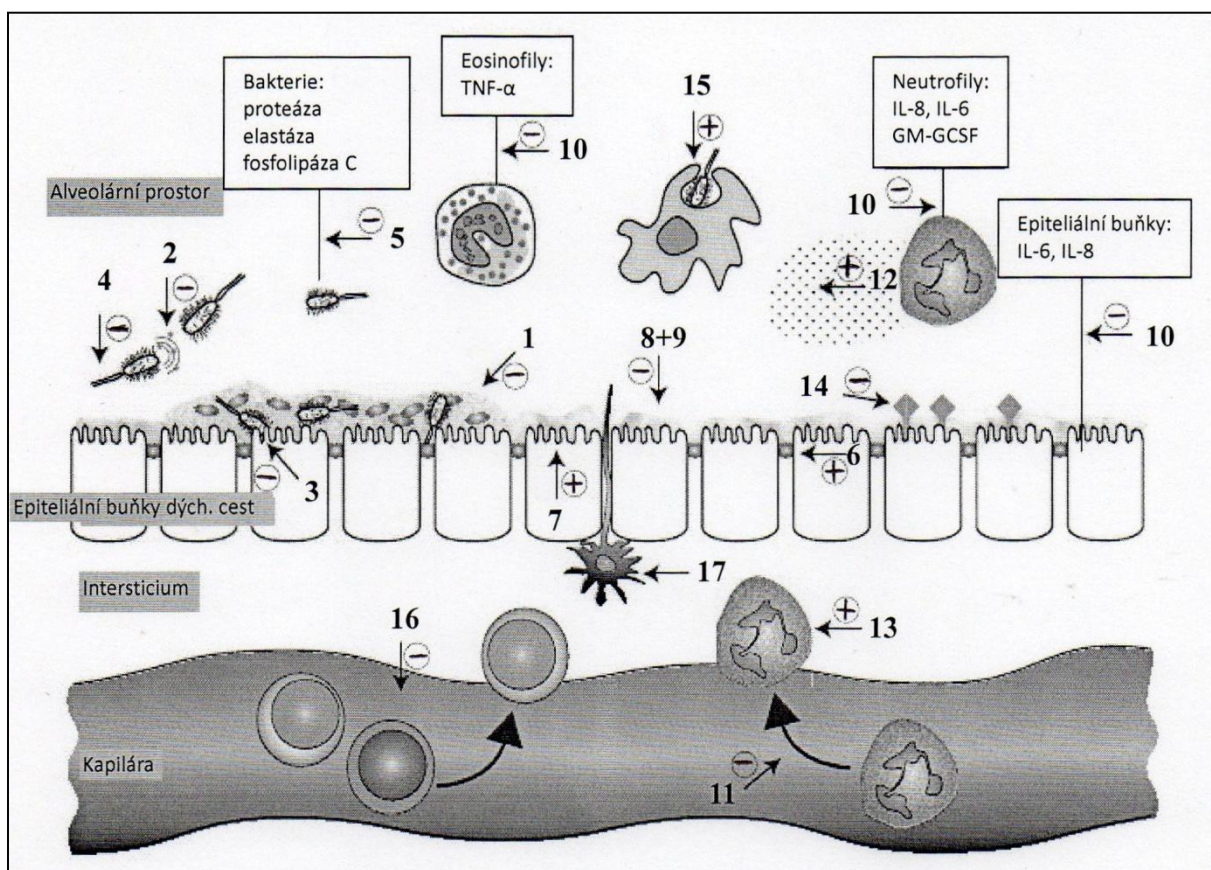
3.4.6 Eosinofily

Eosinofily hrají důležitou roli v patogenezi bronchiálního astmatu. Makrolidy mají inhibiční účinek na zánětlivé cytokiny produkované eosinofily a jinými buňkami, které způsobují chemotaxi eosinofilů do místa zánětu a akumulaci v dýchacích cestách postižených pacientů. Snížení produkce eosinofilních chemoatraktantů bylo prokázáno u buněčné linie lidských plicních fibroblastů po podání erythromycinu *in vitro* (Sato et al., 2001). Z toho nejmarkantnější bylo snížení produkce chemokinů eotaxinu, který kromě chemotaktické aktivity také zprostředkovává eosinofilní produkci reaktivních kyslíkových intermediátů. Ukázalo se, že roxithromycin snižuje produkci těchto intermediátů stimulovanou eotaxinem *in vitro* (Cui et al., 2001). Další, již zmiňovaný, chemokin IL-8 je také chemoatraktantem

eosinofilů, které ho i samy produkují. Erythromycin snižuje produkci IL-8 lidskými eosinofily *in vitro* (Kohyama et al., 1999).

Obrázek 2: Znázornění imunomodulačních mechanismů makrolidů.

(Přavzato z: Altenburg et al., 2010)



Obrázek 2:

1 = Snížení funkce biofilmu; 2 = Inhibice quorum -sensing; 3 = Potlačení bakteriální adherence na epitel; 4 = Ztráta pohyblivosti pomocí bičíku; 5 = Snížení produkce bakteriálních toxinů; 6 = Podpora utváření epitelálních těsných spojů; 7 = Zvýšení pohyblivosti řasinek; 8 = Redukce sekrece hlenu; 9 = Snížení viskozity hlenu; 10 = Inhibice syntézy zánětlivých látek produkovaných bakteriemi, eosinofily, neutrofilý a epitelálními buňkami; 11 = Redukce chemotaxe neutrofilů; 12 = Stimulace neutrofilové degranulace; 13 = Zvýšení apoptózy neutrofilů; 14 = Snížení exprese adhezivních molekul; 15 = Stimulace fagocytózy alveolárních makrofágů; 16 = Snížení počtu T buněk a T buněčné migrace; 17 = Modulace funkce dendritických buněk.

4 KLINICKÉ VYUŽITÍ

4.1 Difuzní panbronchiolitida

Difuzní panbronchiolitida (DPB) je charakterizována chronickým zánětem dýchacích cest společně s progresivní destrukcí plicní tkáně. Primárně jsou dýchací cesty kolonizovány zejména *H. influenzae*, v pozdější fázi jsou nahrazeny *P. aeruginosa*, tyto patogeny mohou zhoršovat průběh onemocnění. Chronický zánět při DPB je charakterizován velkým počtem neutrofilů, lymfocytů a zánětlivých cytokinů, zejména IL-8 (Poletti et al., 2006). Mechanismus účinku makrolidů u pacientů s DPB byl zjištěn snížením počtu neutrofilů (Ichikawa et al., 1992), hladiny adhezivních molekul (Mukae et al., 1997), prozánětlivých cytokinů (Sakito et al., 1996), potlačením cytotoxických T-lymfocytů (Kawakami et al., 1997), dále u myšího modelu DPB se prokázal účinek na nadprodukcii mucinu MUC5AC a další možný účinek je destrukce biofilmu *P. aeruginosa* (Ichimiya et al. 1996).

Jak již bylo zmíněno v úvodu, fenomén dlouhodobé nízkodávkové terapie makrolidy byl započat právě léčbou DPB erythromycinem, který na základě svých imunomodulačních účinků mnohonásobně zvýšil desetileté přežití pacientů z 10% na 90% (Kudoh et al., 1998). Dnes je léčba DPB pomocí makrolidů běžnou praxí.

4.2 Cystická fibróza

Cystická fibróza (CF) je geneticky podmíněná choroba charakterizovaná defektním či chybějícím chloridovým kanálem CFTR, což má za příčinu změnu elektrolytového složení v extracelulární tekutině obklopující epitel dýchacích cest a ty se tak stávají příznivým prostředím pro kolonizaci bakterií *P. aeruginosa* tvořících biofilm a pro vracející se bakteriální infekce (Giamarellos-Bourboulis, 2008). V respiračním traktu se koncentruje velké množství neutrofilů, které přispívají ke spouštění zánětlivé odpovědi spojené s produkcí řady cytokinů a oxidačních produktů, které poškozují plicní tkáň (Sevilla-Sánchez et al. 2009). Použití makrolidů v léčbě CF je založeno na výsledcích získaných u pacientů s DPB, a to díky mnoha podobnostem těchto dvou onemocnění (Hoiby, 1994). Na tomto základě proběhla první pilotní studie, která použila erythromycin na léčbu CF a výsledkem bylo značné snížení

hladiny IL-8 a neutrofilní elastázy ve sputu (Everard et al., 1997). Od té doby proběhlo mnoho studií s využitím azithromycinu. Ve všech bylo prokázáno zlepšení plicní funkce (zvýšení FEV₁) a také FVC. Navíc v některých případech došlo ke snížení frekvence exacerbací, příbytku na váze (Pirzada et al., 2003; Saiman et al., 2003), snížení CRP (Wolter et al., 2002; Hansen et al., 2005), snížení množství *P. aeruginosa* ve sputu (Saiman et al., 2003; Steinkamp et al., 2008), snížení spotřeby antibiotik (Equi et al., 2002; Wolter et al., 2002) a zlepšení kvality života (Wolter et al., 2002; Saiman et al., 2003; Steinkamp et al., 2008). Makrolidová udržovací léčba pacientů s CF je v současné době běžnou praxí a to zejména u těch jedinců, kteří jsou kolonizováni *P. aeruginosa* (Altenburg et al., 2010), nejspíše díky inhibičnímu účinku makrolidů na tvorbu biofilmu touto bakterií. Modulační účinek makrolidů je nejpravděpodobněji založen na ovlivnění cytokinové produkce epiteliálními buňkami dýchacích cest nebo imunitního systému, což dokazuje například studie, kdy u pacientů s CF došlo po léčbě clarithromycinem ke snížení hladiny IL-8 a TNF- α ve sputu, a také k modulaci imunitní odpovědi z TH2 na TH1 (Pukhalsky et al., 2004).

4.3 Astma

Astma je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest charakterizované bronchiální hyperreaktivitou a záchvatovými ataky kašle a ztíženého dýchání. Chronický zánět u astmatu je charakterizován zvýšeným počtem aktivovaných lymfocytů, eosinofilů, žírných buněk a nadprodukcí zánětlivých mediátorů (Altenburg et al., 2010). Role protizánětlivých účinků makrolidů v léčbě astmatu spočívá ve snížení hyperreakivity dýchacích cest, NO produkce, cytokinové exprese a eosinofilní infiltrace (Shimizu et al., 1994; Kamoi et al., 1995; Amayasu et al., 2000). Doposud proběhlo mnoho klinických studií zaměřujících se na efektivitu dlouhodobé nízkodávkové makrolidů v léčbě astmatu, ovšem některé výsledky se liší. Například co se týče FEV₁, některé výsledky dokazují jeho zvýšení (Gotfried et al., 2004) a jiné výsledky zvýšení FEV₁ nepotvrzují (Amayasu et al., 2000).

Nemoc může být někdy také doprovázena infekcí *Mycoplasma pneumoniae* a *Chlamydophila pneumoniae*, které jsou citlivé na makrolidy. Ukázalo se, že zvláště u těchto pacientů dochází k zlepšení příznaků ve srovnání s pacienty těmito patogeny neosídlenými (Kraft et al., 2002). Jinou skupinou pacientů, kde byl prokázán pozitivní účinek makrolidů,

jsou pacienti s neeosinofilním astmatem se zvýšenými počty neutrofilů a zvýšenou hladinou IL-8 v dýchacích cestách. Po léčbě clarithromycinem došlo k snížení koncentrace IL-8, neutrofilní elastázy a MMP-9 ve sputu a zlepšení kvality života pacientů (Simpson et al., 2008). Za zmínku ještě stojí makrolid troleandomycin, který se ukázal být účinným v kortikoid-dependentním astmatu tím, že mění metabolismus steroidů a šetří tak jejich dávky, ovšem ukázalo se, že je tato léčba doprovázena nežádoucími vedlejšími účinky (Nelson et al., 1993).

I přes některé pozitivní výsledky makrolidové léčby astmatu, v současné době neexistuje dostatečný počet důkazů pro doporučení či vyvrácení použití makrolidů jako rutinní léčby chronického astmatu (Richeldi et al., 2005).

4.4 CHOPN

Chronická obstrukční plicní nemoc je charakterizována progresivní obstrukcí dýchacích cest, která může být nevratná (Tamaoki et al., 2004). V patogenezi této nemoci je zapojena řada zánětlivých cytokinů, chemokinů, adhezivních molekul, proteináz a reaktivních kyslíkových radikálů. V dnešní době není žádná farmakologická léčba, která by poté, co nemoc propukne, zabránila její progresi a redukovala úmrtnost (Barnes, 2008). Existuje několik studií zabývajících se účinkem dlouhodobé makrolidové léčby u pacientů s CHOPN. Některé neprokázaly žádný účinek (Banerjee et al., 2005), u jiných došlo k výraznému snížení exacerbací (Suzuki et al., 2001; Seemungal et al., 2008). Jiná studie, která se zaměřila na protizánětlivý účinek clarithromycinu v léčbě CHOPN prokázala značné snížení koncentrace IL-8 a TNF- α ve sputu pacientů (Basyigit et al., 2004). Všechny tyto studie zahrnují relativně malý počet pacientů, nicméně nedávno byla publikovaná zatím největší studie s počtem 1142 účastníků trvající rok, kde azithromycin přidán k běžné léčbě pacientů s CHOPN snížil frekvenci exacerbací a zvýšil kvalitu života, ale také zhoršil sluch u malého procenta účastníků a zvýšil výskyt kolonizace na makrolidy rezistentních organismů (Albert et al., 2011).

Nevyřešenou otázkou zůstává, zda by se v jednotlivých indikacích neměly používat rozdílné makrolidy, určení optimálního dávkování, rozhodnutí kteří pacienti by měli být léčeni. Dále by měly být zhodnoceny některé jejich nežádoucí účinky, jako již výše zmíněný vliv makrolidů na sluch (obzvláště vzhledem k věkovému rozptylu pacientů s CHOPN),

frekvence s kterou makrolidy prodlužují QTc, ať už při samostatném podávání nebo při interakcích s jinými farmaky a zda léčba povede ke kolonizaci dýchacích cest na makrolidy-rezistentních bakterií (Friedlander and Albert, 2010).

4.5 Bronchiolitis obliterans

Bronchiolitis obliterans je jedna z hlavních příčin úmrtí po transplantaci ledvin, která vede k progresivnímu snížení FEV₁ s úmrtností 25-50 % (Bando et al., 1995). Efektivní se ukázala být léčba azithromycinem, při které dochází ke zvýšení FEV₁ a ke snížení rizika úmrtí (Gerhardt et al., 2003). Mechanismem účinku je nejpravděpodobněji snížení počtu neutrofilů a IL-8 (Verleden et al., 2006).

V souvislosti s makrolidovou léčbou jsou zmiňované zejména choroby respiračního traktu, mezi které, kromě výše popsanych, patří také bronchiektázie (Yalcin et al., 2006) a chronické rhinosinusitidy (Wallwork et al., 2006), u obou byl také prokázán pozitivní účinek léčby. Nicméně makrolidová léčba založená na imunomodulačních účincích může mít i širší záběr. Existují studie, které dokazují pozitivní účinek makrolidů také u nemocí, jako jsou rosacea (Bakar et al., 2007), psoriáza (Polat et al., 2007), Crohnova choroba (Inoue et al., 2007), nediferenciované choroby pojivové tkáně (Moskowitz et al., 2006) a revmatoidní artritida (Ogrendik, 2007).

5 RIZIKA SPOJENÁ S LÉČBOU

5.1 Nežádoucí účinky

Při běžné krátkodobé léčbě infekcí makrolidy existují jasně definované nežádoucí účinky, jako jsou gastrointestinální obtíže, srdeční obtíže či ztráta sluchu. Při nízkodávkové dlouhodobé léčbě neexistuje dostatek odpovídajících informací o vedlejších účincích, ale z dosavadních výsledků lze říci, že závažnější vzácná rizika, jako jsou srdeční obtíže, hepatotoxicita či ztráta sluchu u nízkodávkové léčby jsou zanedbatelná (Altenburg et al., 2010), nejspíše právě díky velmi nízkým dávkám. Lehké až střední gastrointestinální obtíže byly zaznamenány při nízkodávkové dlouhodobé léčbě pacientů trpících chronickými plicními nemocemi, například u pacientů s CF v 17,3% (McCormack et al., 2007) a s astmatem v 8,2% (Black et al., 2001). Gastrointestinální obtíže mohou být způsobeny schopností makrolidů stimulovat gastrointestinální motilitu (Zuckerman, 2004).

5.2 Rezistence

Velkým rizikem dlouhodobé makrolidové léčby je vypěstování rezistence mikrobiálních organismů na makrolidy. Například ve studii, kdy byla pacientům s CF ordinována udržovací léčba azithromycinem po dobu pěti let, došlo ke zvýšení rezistence *Staphylococcus aureus* na erythromycin z 6,9 na 53,8% a rezistence *Haemophilus spp.* na clarithromycin z 3,7 na 37,5% (Phaff et al., 2006). Dokonce byla prokázána 100% rezistence *Staphylococcus aureus* po léčbě pacientů s CF azithromycinem po dobu 3,5 let (Tramper-Stranders et al., 2007). Vzrůst rezistence se po takto dlouhém několikaletém podávání ukázal být vysoký, ovšem při kratším režimu trvajícím týdny až měsíce riziko už nemusí být tak vysoké. Například po tříměsíční léčbě pacientů s CHOPN nebyly nalezeny žádné rezistentní organismy na makrolidy (Banerjee et al., 2005).

V praxi je proto nutné při indikování dlouhodobé makrolidové léčby zvážit její výhody i možná rizika s ní spojená.

6 ZÁVĚR

Imunomodulační účinky makrolidových antibiotik se dostaly do popředí zájmu od doby, kdy byla objevena schopnost makrolidů potlačovat chronický zánět a výrazně snížit úmrtnost pacientů s difúzní panbronchiolitidou. Způsob, jakým makrolidy potlačují zánět, je dnes alespoň částečně objasněn a zahrnuje celou řadu mechanismů působících zejména přes intracelulární signalizační MAPK dráhy ovlivňující imunitní i epitelální buňky, produkci zánětlivých cytokinů, sekreci hlenu a také působí na interakce mezi hostitelem a patogenem, především v podobě tvorby bakteriálního biofilmu na dýchacích epitelech hostitele. Není vyloučeno, že mechanismů je ještě více, než bylo dosud objeveno.

Jejich užití se poté rozšířilo i na jiná onemocnění doprovázená chronickým zánětem, zejména respiračních, jako je CHOPN, cystická fibróza či astma. U těchto a dalších nemocí se sice tak výrazný úspěch makrolidové léčby, jako u DPB, neopakoval, nicméně v mnoha případech se makrolidy prezentují jako vhodný doplněk léčby zlepšující průběh nemoci, zamezující zhoršování jejího stavu a zvyšující kvalitu života. Tím se stávají jednou z možných voleb léčby a v některých případech jednou z nejlepších. Přesto se jejich léčba u nemocí vyjma DPB zatím nedá oficiálně doporučit vzhledem k nedostatečnému počtu statisticky významných studií a hlavnímu riziku vzniku rezistentních patogenů. Předejít tomuto riziku by se v ideálním případě dalo vyvinutím vhodného nového makrolidového antibiotika bez antibakteriálních účinků, ale zachovávajícím si účinky imunomodulační. Tyto snahy jsou aktuální. Například v současné době probíhá významný projekt ve spolupráci MBÚ AVČR a IKEM, kde jsou testovány některé sekundární metabolity streptomycet, mezi které patří kromě makrolidů také jim příbuzná manumycinová antibiotika. Předběžné výsledky naznačují, že zejména některé látky příbuzné manumycinu A by požadované vlastnosti mohly mít. Nicméně zavedení nového léku do běžné klinické praxe trvá poměrně dlouho, a proto je to otázkou budoucnosti.

Seznam použité literatury

- Abdelghaffar, H., Vazifeh, D., and Labro, M.T. (1996). Comparison of various macrolides on stimulation of human neutrophil degranulation in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 38, 81-93.
- Albelda, S.M., Smith, C.W., and Ward, P.A. (1994). Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB Journal* 8, 504-512.
- Albert, R.K., Connett, J., Bailey, W.C., Casaburi, R., Cooper, J.A., Jr., Criner, G.J., Curtis, J.L., Dransfield, M.T., Han, M.K., Lazarus, S.C., *et al.* Azithromycin for prevention of exacerbations of COPD. *N Engl J Med* 365, 689-698.
- Altenburg, J., De Graaff, C.S., Van Der Werf, T.S., and Boersma, W.G. Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics - Part 1: Biological mechanisms. *Respiration* 81, 67-74.
- Altenburg, J., de Graaff, C.S., van der Werf, T.S., and Boersma, W.G. (2010). Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics - part 2: advantages and disadvantages of long-term, low-dose macrolide therapy. *Respiration* 81, 75-87.
- Alvarez-Elcoro, S., and Enzler, M.J. (1999). The macrolides: erythromycin, clarithromycin, and azithromycin. *Mayo Clin Proc* 74, 613-634.
- Amayasu, H., Yoshida, S., Ebana, S., Yamamoto, Y., Nishikawa, T., Shoji, T., Nakagawa, H., Hasegawa, H., Nakabayashi, M., and Ishizaki, Y. (2000). Clarithromycin suppresses bronchial hyperresponsiveness associated with eosinophilic inflammation in patients with asthma. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 84, 594-598.
- Anderson, R. (1989). Erythromycin and roxithromycin potentiate human neutrophil locomotion in vitro by inhibition of leukoattractant-activated superoxide generation and autooxidation. *J Infect Dis* 159, 966-973.
- Aoshiba, K., Nagai, A., and Konno, K. (1995). Erythromycin shortens neutrophil survival by accelerating apoptosis. *Antimicrob Agents Chemother* 39, 872-877.
- Asano, K., Kamakazu, K., Hisamitsu, T., and Suzaki, H. (2001). Modulation of Th2 type cytokine production from human peripheral blood leukocytes by a macrolide antibiotic, roxithromycin, in vitro. *International Immunopharmacology* 1, 1913-1921.
- Asgrimsson, V., Gudjonsson, T., Gudmundsson, G.H., and Baldursson, O. (2006). Novel effects of azithromycin on tight junction proteins in human airway epithelia. *Antimicrob Agents Chemother* 50, 1805-1812.
- Bakar, O., Demircay, Z., Yuksel, M., Haklar, G., and Sanisoglu, Y. (2007). The effect of azithromycin on reactive oxygen species in rosacea. *Clin Exp Dermatol* 32, 197-200.
- Bando, K., Paradis, I.L., Similo, S., Konishi, H., Komatsu, K., Zullo, T.G., Yousem, S.A., Close, J.M., Zeevi, A., Duquesnoy, R.J., *et al.* (1995). Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. An analysis of risk factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 110, 4-13; discussion 13-14.
- Banerjee, D., Khair, O.A., and Honeybourne, D. (2005). The effect of oral clarithromycin on health status and sputum bacteriology in stable COPD. *Respir Med* 99, 208-215.

- Barnes, P.J. (2008). Frontrunners in novel pharmacotherapy of COPD. *Curr Opin Pharmacol* 8, 300-307.
- Basyigit, I., Yildiz, F., Ozkara, S.K., Yildirim, E., Boyaci, H., and Ilgazli, A. (2004). The effect of clarithromycin on inflammatory markers in chronic obstructive pulmonary disease: preliminary data. *Ann Pharmacother* 38, 1400-1405.
- Black, P.N., Blasi, F., Jenkins, C.R., Scicchitano, R., Mills, G.D., Rubinfeld, A.R., Ruffin, R.E., Mullins, P.R., Dangain, J., Cooper, B.C., *et al.* (2001). Trial of roxithromycin in subjects with asthma and serological evidence of infection with *Chlamydia pneumoniae*. *Am J Respir Crit Care Med* 164, 536-541.
- Cui, C.H., Honda, K., Saito, N., Yamada, Y., Sannohe, S., Ueki, S., Hamada, K., Yamaguchi, K., Kobayashi, Y., Adachi, T., *et al.* (2001). Effect of roxithromycin on eotaxin-primed reactive oxygen species from eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 125 Suppl 1, 38-41.
- Čulić, O., Erakovic, V., Cepelak, I., Barisic, K., Brajsa, K., Ferencic, Z., Galovic, R., Glojnaric, I., Manojlovic, Z., Munic, V., *et al.* (2002). Azithromycin modulates neutrophil function and circulating inflammatory mediators in healthy human subjects. *Eur J Pharmacol* 450, 277-289.
- Čulić, O., Eraković, V., and Parnham, M.J. (2001). Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur J Pharmacol* 429, 209-229.
- Davis, S. (2011). Macrolides and ketolides: More than just antimicrobials. *SA Pharmaceutical Journal* 78, 24-27.
- Desaki, M., Takizawa, H., Ohtoshi, T., Kasama, T., Kobayashi, K., Sunazuka, T., Omura, S., Yamamoto, K., and Ito, K. (2000). Erythromycin Suppresses Nuclear Factor- κ B and Activator Protein-1 Activation in Human Bronchial Epithelial Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 267, 124-128.
- Enomoto, F., Ichikawa, G., Nagaoka, I., and Yamashita, T. (1998). Effect of erythromycin on otitis media with effusion in experimental rat model. *Acta Oto-Laryngologica, Supplement*, 57-60.
- Equi, A., Balfour-Lynn, I.M., Bush, A., and Rosenthal, M. (2002). Long term azithromycin in children with cystic fibrosis: a randomised, placebo-controlled crossover trial. *Lancet* 360, 978-984.
- Everard, M.L., Sly, P., Brennan, S., and Ryan, G. (1997). Macrolide antibiotics in diffuse panbronchiolitis and in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 10, 2926.
- Feldman, C., Anderson, R., Theron, A.J., Ramafi, G., Cole, P.J., and Wilson, R. (1997). Roxithromycin, clarithromycin, and azithromycin attenuate the injurious effects of bioactive phospholipids on human respiratory epithelium in vitro. *Inflammation* 21, 655-665.
- Friedlander, A.L., and Albert, R.K. (2010). Chronic macrolide therapy in inflammatory airways diseases. *Chest* 138, 1202-1212.
- Gerhardt, S.G., McDyer, J.F., Girgis, R.E., Conte, J.V., Yang, S.C., and Orens, J.B. (2003). Maintenance azithromycin therapy for bronchiolitis obliterans syndrome: results of a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 168, 121-125.
- Giamarellos-Bourboulis, E.J. (2008). Macrolides beyond the conventional antimicrobials: a class of potent immunomodulators. *Int J Antimicrob Agents* 31, 12-20.

- Gorrini, M., Lupi, A., Viglio, S., Pamparana, F., Cetta, G., Iadarola, P., Powers, J.C., and Luisetti, M. (2001). Inhibition of human neutrophil elastase by erythromycin and flurythromycin, two macrolide antibiotics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 25, 492-499.
- Gotfried, M.H., Jung, R., Messick, C.R., Rubinstein, I., Garey, K.W., Rodvold, K.A., and Danziger, L.H. (2004). Effects of six-week clarithromycin therapy in corticosteroid-dependent asthma: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental* 65, 1-12.
- Hansen, C.R., Pressler, T., Koch, C., and Hoiby, N. (2005). Long-term azitromycin treatment of cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection; an observational cohort study. *J Cyst Fibros* 4, 35-40.
- Hardy, D.J., Hensey, D.M., Beyer, J.M., Vojtko, C., McDonald, E.J., and Fernandes, P.B. (1988). Comparative in vitro activities of new 14-, 15-, and 16-membered macrolides. *Antimicrob Agents Chemother* 32, 1710-1719.
- Hirakata, Y., Kaku, M., Tomono, K., Tateda, K., Furuya, N., Matsumoto, T., Araki, R., and Yamaguchi, K. (1992). Efficacy of erythromycin lactobionate for treating *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 36, 1198-1203.
- Hodge, S., Hodge, G., Brozyna, S., Jersmann, H., Holmes, M., and Reynolds, P.N. (2006). Azithromycin increases phagocytosis of apoptotic bronchial epithelial cells by alveolar macrophages. *Eur Respir J* 28, 486-495.
- Hoiby, N. (1994). Diffuse panbronchiolitis and cystic fibrosis: East meets West. *Thorax* 49, 531-532.
- Ichikawa, Y., Ninomiya, H., Koga, H., Tanaka, M., Kinoshita, M., Tokunaga, N., Yano, T., and Oizumi, K. (1992). Erythromycin reduces neutrophils and neutrophil-derived elastolytic-like activity in the lower respiratory tract of bronchiolitis patients. *Am Rev Respir Dis* 146, 196-203.
- Ichimiya, T., Takeoka, K., Hiramatsu, K., Hirai, K., Yamasaki, T., and Nasu, M. (1996). The influence of azithromycin on the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Chemotherapy* 42, 186-191.
- Inoue, S., Nakase, H., Matsuura, M., Ueno, S., Uza, N., Kitamura, H., Mikami, S., Tamaki, H., Kasahara, K., and Chiba, T. (2007). Open label trial of clarithromycin therapy in Japanese patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 22, 984-988.
- Ishizawa, K., Suzuki, T., Yamaya, M., Jia, Y.X., Kobayashi, S., Ida, S., Kubo, H., Sekizawa, K., and Sasaki, H. (2005). Erythromycin increases bactericidal activity of surface liquid in human airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289, L565-573.
- Jain, R., and Danziger, L.H. (2004). The macrolide antibiotics: a pharmacokinetic and pharmacodynamic overview. *Curr Pharm Des* 10, 3045-3053.
- Jun, Y.T., Kim, H.J., Song, M.J., Lim, J.H., Lee, D.G., Han, K.J., Choi, S.M., Yoo, J.H., Shin, W.S., and Choi, J.H. (2003). In vitro effects of ciprofloxacin and roxithromycin on apoptosis of jurkat T lymphocytes. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 1161-1164.
- Kadota, J.-I., Mizunoe, S., Kishi, K., Tokimatsu, I., Nagai, H., and Nasu, M. (2005). Antibiotic-induced apoptosis in human activated peripheral lymphocytes. *International Journal of Antimicrobial Agents* 25, 216-220.

- Kamoi, H., Kurihara, N., Fujiwara, H., Hirata, K., and Takeda, T. (1995). The macrolide antibacterial roxithromycin reduces bronchial hyperresponsiveness and superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes in patients with asthma. *Journal of Asthma* 32, 191-197.
- Kaneko, Y., Yanagihara, K., Seki, M., Kuroki, M., Miyazaki, Y., Hirakata, Y., Mukae, H., Tomono, K., Kadota, J., and Kohno, S. (2003). Clarithromycin inhibits overproduction of muc5ac core protein in murine model of diffuse panbronchiolitis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 285, L847-853.
- Kanoh, S., and Rubin, B.K. (2010). Mechanisms of action and clinical application of macrolides as immunomodulatory medications. *Clin Microbiol Rev* 23, 590-615.
- Kawakami, K., Kadota, J., Iida, K., Fujii, T., Shirai, R., Matsubara, Y., and Kohno, S. (1997). Phenotypic characterization of T cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and peripheral blood of patients with diffuse panbronchiolitis; the importance of cytotoxic T cells. *Clin Exp Immunol* 107, 410-416.
- Kawamura-Sato, K., Iinuma, Y., Hasegawa, T., Horii, T., Yamashino, T., and Ohta, M. (2000). Effect of subinhibitory concentrations of macrolides on expression of flagellin in *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 44, 2869-2872.
- Kawasaki, S., Takizawa, H., Ohtoshi, T., Takeuchi, N., Kohyama, T., Nakamura, H., Kasama, T., Kobayashi, K., Nakahara, K., Morita, Y., *et al.* (1998). Roxithromycin inhibits cytokine production by and neutrophil attachment to human bronchial epithelial cells in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 42, 1499-1502.
- Kikuchi, T., Hagiwara, K., Honda, Y., Gomi, K., Kobayashi, T., Takahashi, H., Tokue, Y., Watanabe, A., and Nukiwa, T. (2002). Clarithromycin suppresses lipopolysaccharide-induced interleukin-8 production by human monocytes through AP-1 and NF- κ B transcription factors. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 49, 745-755.
- Kohyama, T., Takizawa, H., Kawasaki, S., Akiyama, N., Sato, M., and Ito, K. (1999). Fourteen-member macrolides inhibit interleukin-8 release by human eosinophils from atopic donors. *Antimicrob Agents Chemother* 43, 907-911.
- Koch, C.C., Esteban, D.J., Chin, A.C., Olson, M.E., Read, R.R., Ceri, H., Morck, D.W., and Buret, A.G. (2000). Apoptosis, oxidative metabolism and interleukin-8 production in human neutrophils exposed to azithromycin: effects of *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 46, 19-26.
- Kraft, M., Cassell, G.H., Pak, J., and Martin, R.J. (2002). *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in asthma: effect of clarithromycin. *Chest* 121, 1782-1788.
- Kudoh, S., Azuma, A., Yamamoto, M., Izumi, T., and Ando, M. (1998). Improvement of survival in patients with diffuse panbronchiolitis treated with low-dose erythromycin. *Am J Respir Crit Care Med* 157, 1829-1832.
- Labro, M.T. (2004). Cellular and molecular effects of macrolides on leukocyte function. *Curr Pharm Des* 10, 3067-3080.
- Labro, M.T., El Benna, J., and Babin-Chevaye, C. (1989). Comparison of the in-vitro effect of several macrolides on the oxidative burst of human neutrophils. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 24, 561-572.
- Lechapt-Zalcman, E., Coste, A., d'Ortho, M.P., Frisdal, E., Harf, A., Lafuma, C., and Escudier, E. (2001). Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in nasal polyps. *J Pathol* 193, 233-241.

- Lin, H.C., Wang, C.H., Liu, C.Y., Yu, C.T., and Kuo, H.P. (2000). Erythromycin inhibits α_2 -integrins (CD11b/CD18) expression, interleukin-8 release and intracellular oxidative metabolism in neutrophils. *Respiratory Medicine* 94, 654-660.
- Mazzei, T., Mini, E., Novelli, A., and Periti, P. (1993). Chemistry and mode of action of macrolides. *J Antimicrob Chemother* 31 Suppl C, 1-9.
- McCormack, J., Bell, S., Senini, S., Walmsley, K., Patel, K., Wainwright, C., Serisier, D., Harris, M., and Bowler, S. (2007). Daily versus weekly azithromycin in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 30, 487-495.
- Meyer, M., Huaux, F., Gavilanes, X., van den Brule, S., Lebecque, P., Lo Re, S., Lison, D., Scholte, B., Wallemacq, P., and Leal, T. (2009). Azithromycin reduces exaggerated cytokine production by M1 alveolar macrophages in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 41, 590-602.
- Miller, M.B., and Bassler, B.L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 55, 165-199.
- Mitsuya, Y., Kawai, S., and Kobayashi, H. (2000). Influence of macrolides on guanosine diphospho-D-mannose dehydrogenase activity in *Pseudomonas* biofilm. *J Infect Chemother* 6, 45-50.
- Moskowitz, R.W., Lesko, M., and Hooper, M. (2006). Open-label study of clarithromycin in patients with undifferentiated connective tissue disease. *Semin Arthritis Rheum* 36, 82-87.
- Mukae, H., Kadota, J., Ashitani, J., Taniguchi, H., Mashimoto, H., Kohno, S., and Matsukura, S. (1997). Elevated levels of soluble adhesion molecules in serum of patients with diffuse panbronchiolitis. *Chest* 112, 1615-1621.
- Murphy, B.S., Sundareshan, V., Cory, T.J., Hayes, D., Jr., Anstead, M.I., and Feola, D.J. (2008). Azithromycin alters macrophage phenotype. *J Antimicrob Chemother* 61, 554-560.
- Nakamura, H., Yoshimura, K., McElvaney, N.G., and Crystal, R.G. (1992). Neutrophil elastase in respiratory epithelial lining fluid of individuals with cystic fibrosis induces interleukin-8 gene expression in a human bronchial epithelial cell line. *J Clin Invest* 89, 1478-1484.
- Nelson, H.S., Hamilos, D.L., Corsello, P.R., Levesque, N.V., Buchmeier, A.D., and Bucher, B.L. (1993). A double-blind study of troleandomycin and methylprednisolone in asthmatic subjects who require daily corticosteroids. *Am Rev Respir Dis* 147, 398-404.
- Ogrendik, M. (2007). Effects of clarithromycin in patients with active rheumatoid arthritis. *Curr Med Res Opin* 23, 515-522.
- Oishi, K., Sonoda, F., Kobayashi, S., Iwagaki, A., Nagatake, T., Matsushima, K., and Matsumoto, K. (1994). Role of interleukin-8 (IL-8) and an inhibitory effect of erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway diseases. *Infect Immun* 62, 4145-4152.
- Ou, X.M., Feng, Y.L., Wen, F.Q., Wang, K., Yang, J., Deng, Z.P., Liu, D.S., and Li, Y.P. (2008). Macrolides attenuate mucus hypersecretion in rat airways through inactivation of NF-kappaB. *Respirology* 13, 63-72.
- Perez-Trallero, E., Vicente, D., Montes, M., Marimon, J.M., and Pineiro, L. (2001). High proportion of pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish adults. *J Antimicrob Chemother* 48, 225-229.

- Phaff, S.J., Tiddens, H.A., Verbrugh, H.A., and Ott, A. (2006). Macrolide resistance of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus* species associated with long-term azithromycin use in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 57, 741-746.
- Pirzada, O.M., McGaw, J., Taylor, C.J., and Everard, M.L. (2003). Improved lung function and body mass index associated with long-term use of Macrolide antibiotics. *J Cyst Fibros* 2, 69-71.
- Polat, M., Lenk, N., Yalcin, B., Gur, G., Tamer, E., Artuz, F., and Alli, N. (2007). Efficacy of erythromycin for psoriasis vulgaris. *Clin Exp Dermatol* 32, 295-297.
- Poletti, V., Casoni, G., Chilosi, M., and Zompatori, M. (2006). Diffuse panbronchiolitis. *Eur Respir J* 28, 862-871.
- Pukhalsky, A.L., Shmarina, G.V., Kapranov, N.I., Kokarovtseva, S.N., Pukhalskaya, D., and Kashirskaja, N.J. (2004). Anti-inflammatory and immunomodulating effects of clarithromycin in patients with cystic fibrosis lung disease. *Mediators of Inflammation* 13, 111-117.
- Richeldi, L., Ferrara, G., Fabbri, L.M., Lasserson, T.J., and Gibson, P.G. (2005). Macrolides for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev*, CD002997.
- Saiman, L., Marshall, B.C., Mayer-Hamblett, N., Burns, J.L., Quittner, A.L., Cibene, D.A., Coquillet, S., Fieberg, A.Y., Accurso, F.J., and Campbell, P.W., 3rd (2003). Azithromycin in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial. *JAMA* 290, 1749-1756.
- Sakito, O., Kadota, J., Kohno, S., Abe, K., Shirai, R., and Hara, K. (1996). Interleukin 1 beta, tumor necrosis factor alpha, and interleukin 8 in bronchoalveolar lavage fluid of patients with diffuse panbronchiolitis: a potential mechanism of macrolide therapy. *Respiration* 63, 42-48.
- Sato, E., Nelson, D.K., Koyama, S., Hoyt, J.C., and Robbins, R.A. (2001). Erythromycin modulates eosinophil chemotactic cytokine production by human lung fibroblasts in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 45, 401-406.
- Seemungal, T.A., Wilkinson, T.M., Hurst, J.R., Perera, W.R., Sapsford, R.J., and Wedzicha, J.A. (2008). Long-term erythromycin therapy is associated with decreased chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 178, 1139-1147.
- Shimizu, T., Kato, M., Mochizuki, H., Tokuyama, K., Morikawa, A., and Kuroume, T. (1994). Roxithromycin reduces the degree of bronchial hyperresponsiveness in children with asthma. *Chest* 106, 458-461.
- Shimizu, T., Shimizu, S., Hattori, R., Gabazza, E.C., and Majima, Y. (2003). In vivo and in vitro effects of macrolide antibiotics on mucus secretion in airway epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 168, 581-587.
- Shinkai, M., Foster, G.H., and Rubin, B.K. (2006a). Macrolide antibiotics modulate ERK phosphorylation and IL-8 and GM-CSF production by human bronchial epithelial cells. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* 290, L75-L85.
- Shinkai, M., Henke, M.O., and Rubin, B.K. (2008). Macrolide antibiotics as immunomodulatory medications: proposed mechanisms of action. *Pharmacol Ther* 117, 393-405.

- Shinkai, M., Lopez-Boado, Y.S., and Rubin, B.K. (2007). Clarithromycin has an immunomodulatory effect on ERK-mediated inflammation induced by *Pseudomonas aeruginosa* flagellin. *J Antimicrob Chemother* 59, 1096-1101.
- Shinkai, M., Tamaoki, J., Kobayashi, H., Kanoh, S., Motoyoshi, K., Kute, T., and Rubin, B.K. (2006b). Clarithromycin delays progression of bronchial epithelial cells from G1 phase to S phase and delays cell growth via extracellular signal-regulated protein kinase suppression. *Antimicrob Agents Chemother* 50, 1738-1744.
- Simpson, J.L., Powell, H., Boyle, M.J., Scott, R.J., and Gibson, P.G. (2008). Clarithromycin targets neutrophilic airway inflammation in refractory asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 177, 148-155.
- Skindersoe, M.E., Alhede, M., Phipps, R., Yang, L., Jensen, P.O., Rasmussen, T.B., Bjarnsholt, T., Tolker-Nielsen, T., Hoiby, N., and Givskov, M. (2008). Effects of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 52, 3648-3663.
- Sofer, D., Gilboa-Garber, N., Belz, A., and Garber, N.C. (1999). 'Subinhibitory' erythromycin represses production of *Pseudomonas aeruginosa* lectins, autoinducer and virulence factors. *Chemotherapy* 45, 335-341.
- Sommerhoff, C.P., Nadel, J.A., Basbaum, C.B., and Caughey, G.H. (1990). Neutrophil elastase and cathepsin G stimulate secretion from cultured bovine airway gland serous cells. *Journal of Clinical Investigation* 85, 682-689.
- Steinkamp, G., Schmitt-Grohe, S., Doring, G., Staab, D., Pfrunder, D., Beck, G., Schubert, R., and Zielen, S. (2008). Once-weekly azithromycin in cystic fibrosis with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Respir Med* 102, 1643-1653.
- Sugiyama, K., Shirai, R., Mukae, H., Ishimoto, H., Nagata, T., Sakamoto, N., Ishii, H., Nakayama, S., Yanagihara, K., Mizuta, Y., *et al.* (2007). Differing effects of clarithromycin and azithromycin on cytokine production by murine dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 147, 540-546.
- Sunazuka, T., Yoshida, K., Oohori, M., Ootoguro, K., Harigaya, Y., Iwai, Y., Akagawa, K.S., and Omura, S. (2003). Effect of 14-membered macrolide compounds on monocyte to macrophage differentiation. *J Antibiot (Tokyo)* 56, 721-724.
- Suzuki, T., Yamaya, M., Sekizawa, K., Hosoda, M., Yamada, N., Ishizuka, S., Yoshino, A., Yasuda, H., Takahashi, H., Nishimura, H., *et al.* (2002). Erythromycin inhibits rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 165, 1113-1118.
- Suzuki, T., Yanai, M., Yamaya, M., Satoh-Nakagawa, T., Sekizawa, K., Ishida, S., and Sasaki, H. (2001). Erythromycin and common cold in COPD. *Chest* 120, 730-733.
- Tabary, O., Boncoeur, E., de Martin, R., Pepperkok, R., Clement, A., Schultz, C., and Jacquot, J. (2006). Calcium-dependent regulation of NF-(kappa)B activation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Cell Signal* 18, 652-660.
- Tamaoki, J. (2004). The Effects of Macrolides on Inflammatory Cells. *Chest* 125, 41S-51S.
- Tamaoki, J., Kadota, J., and Takizawa, H. (2004). Clinical implications of the immunomodulatory effects of macrolides. *Am J Med* 117 Suppl 9A, 5S-11S.

- Tang, V.W., and Goodenough, D.A. (2003). Paracellular ion channel at the tight junction. *Biophys J* 84, 1660-1673.
- Tateda, K., Ishii, Y., Kimura, S., Horikawa, M., Miyairi, S., and Yamaguchi, K. (2007). Suppression of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing systems by macrolides: a promising strategy or an oriental mystery? *J Infect Chemother* 13, 357-367.
- Tosi, M.F., Stark, J.M., Smith, C.W., Hamedani, A., Gruenert, D.C., and Infeld, M.D. (1992). Induction of ICAM-1 expression on human airway epithelial cells by inflammatory cytokines: effects on neutrophil-epithelial cell adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7, 214-221.
- Tramper-Stranders, G.A., Wolfs, T.F., Flee, A., Kimpen, J.L., and van der Ent, C.K. (2007). Maintenance azithromycin treatment in pediatric patients with cystic fibrosis: long-term outcomes related to macrolide resistance and pulmonary function. *Pediatr Infect Dis J* 26, 8-12.
- Tsai, W.C., Rodriguez, M.L., Young, K.S., Deng, J.C., Thannickal, V.J., Tateda, K., Hersenson, M.B., and Standiford, T.J. (2004). Azithromycin blocks neutrophil recruitment in *Pseudomonas* endobronchial infection. *Am J Respir Crit Care Med* 170, 1331-1339.
- Tsang, K.W., Ng, P., Ho, P.L., Chan, S., Tipoe, G., Leung, R., Sun, J., Ho, J.C., Ip, M.S., and Lam, W.K. (2003). Effects of erythromycin on *Pseudomonas aeruginosa* adherence to collagen and morphology in vitro. *Eur Respir J* 21, 401-406.
- Tsuchihashi, Y., Oishi, K., Yoshimine, H., Suzuki, S., Kumatori, A., Sunazuka, T., Omura, S., Matsushima, K., and Nagatake, T. (2002). Fourteen-member macrolides suppress interleukin-8 production but do not promote apoptosis of activated neutrophils. *Antimicrob Agents Chemother* 46, 1101-1104.
- Verleden, G.M., Vanaudenaerde, B.M., Dupont, L.J., and Van Raemdonck, D.E. (2006). Azithromycin reduces airway neutrophilia and interleukin-8 in patients with bronchiolitis obliterans syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 174, 566-570.
- Wallwork, B., Coman, W., Mackay-Sim, A., Greiff, L., and Cervin, A. (2006). A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of macrolide in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 116, 189-193.
- Wolter, J., Seeney, S., Bell, S., Bowler, S., Masel, P., and McCormack, J. (2002). Effect of long term treatment with azithromycin on disease parameters in cystic fibrosis: a randomised trial. *Thorax* 57, 212-216.
- Wozniak, D.J., and Keyser, R. (2004). Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 125, 62S-69S; quiz 69S.
- Xu, G., Fujita, J., Negayama, K., Yuube, K., Hojo, S., Yamaji, Y., Kawanishi, K., and Takahara, J. (1996). Effect of macrolide antibiotics on macrophage functions. *Microbiol Immunol* 40, 473-479.
- Yalcin, E., Kiper, N., Ozcelik, U., Dogru, D., Firat, P., Sahin, A., Ariyurek, M., Mocan, G., Gurcan, N., and Gocmen, A. (2006). Effects of claritromycin on inflammatory parameters and clinical conditions in children with bronchiectasis. *J Clin Pharm Ther* 31, 49-55.
- Yamaryo, T., Oishi, K., Yoshimine, H., Tsuchihashi, Y., Matsushima, K., and Nagatake, T. (2003). Fourteen-member macrolides promote the phosphatidylserine receptor-dependent phagocytosis of apoptotic neutrophils by alveolar macrophages. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 48-53.

Yamasaki, T., Ichimiya, T., Hirai, K., Hiramatsu, K., and Nasu, M. (1997). Effect of antimicrobial agents on the piliation of *Pseudomonas aeruginosa* and adherence to mouse tracheal epithelium. *J Chemother* 9, 32-37.

Yasuda, H., Ajiki, Y., Koga, T., Kawada, H., and Yokota, T. (1993). Interaction between biofilms formed by *Pseudomonas aeruginosa* and clarithromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 37, 1749-1755.

Zuckerman, J.M. (2004). Macrolides and ketolides: azithromycin, clarithromycin, telithromycin. *Infect Dis Clin North Am* 18, 621-649, xi-.